

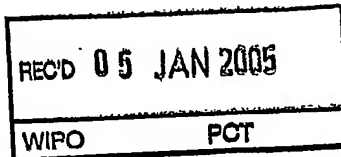
BEST AVAILABLE COPY



HR04/00053

28 DEC 2004 (28-12-2004)

REPUBLIKA HRVATSKA  
DRŽAVNI ZAVOD ZA INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



## SVJEDODŽBA O PRAVU PRVENSTVA PRIORITY CERTIFICATE

Državnom zavodu za intelektualno vlasništvo podnesena je prijava patenta s podacima kako slijedi:  
*The State Intellectual Property Office received the patent application containing the following indications:*

(71) Ime(na) podnositelja prijave ili tvrtka i sjedište: / *Name(s) of applicants:*

Pliva-Istraživački institut d.o.o.  
Prilaz Baruna Filipovića 29  
10000 Zagreb, HR

(22) Datum podnošenja prijave patenta: / *Date(s) of filing of the application(s):* 21.11.2003.

(21) Broj prijave patenta: / *Number(s) assigned to the application:* P20030956A

(54) Naziv izuma: / *Title of the invention:*

UPOTREBA 1,2-DIAZA-DIBENZO[e,h]AZULENA ZA PROIZVODNJU  
FARMACEUTSKIH PRIPRAVAKA ZA TRETIRANJE I PREVENCIJU BOLESTI I  
POREMEĆAJA SREDIŠNJEG ŽIVČANOG SUSTAVA

Ovime se potvrđuje da su navedeni podaci kao i prilog istovjetni s izvornikom.  
*This is to certify that the enclosed data are identical to the original.*



sc. Željko Topić, dipl. oec.

U Zagrebu, 28.12.2004.

Klasa: UP/I-910-08/04-020/0053  
Ur. br.: 559-03/4-04-014

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

REPUBLIC OF CROATIA  
STATE INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

# UPOTREBA 1,2-DIAZA-DIBENZO[e,h]AZULENA ZA PROIZVODNJU FARMACEUTSKIH PRIPRAVAKA ZA TRETIRANJE I PREVENCIJU BOLESTI I POREMEĆAJA SREDIŠNJEG ŽIVČANOG SUSTAVA

## 5 OPIS IZUMA

Ovaj izum odnosi se na upotrebu spojeva iz skupine 1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulena te njihovih farmakološki prihvatljivih soli i solvata za proizvodnju farmaceutskog pripravka za tretiranje i prevenciju bolesti, oštećenja i poremećaja središnjeg živčanog sustava (CNS od engl. central nervous system) nastalih usljed poremećaja neurokemijske ravnoteže biogenih amina.

### Stanje na području tehnike

Nepravilnosti u ravnotežnom stanju (engl. steady state) biogenih amina (serotonina, norepinefrina, dopamina) te drugih neurotransmitera i njihovih receptora u CNS-u mogu biti uzrok različitih mentalnih bolesti, oštećenja i poremećaja (npr. depresija, šizofrenija, manično ponašanje i sl.). Patološke promijene u CNS-u koje su uzrokovane poremećajima koncentracije neurotransmitera mogu nastati zbog neuravnotežene (prevelike ili premale) sinteze, nepravilnosti u uskladištavanju, oslobađanju, metaboliziranju ili reapsorbciji određenog neurotransmitera.

Rezultati istraživanja koja su bila usmjerena na razumijevanje patogeneze mentalnih poremećaja ukazali su da poremećaj ravnoteže serotonina ima važnu ulogu u različitim bolestima. Hipoteza «deficijencije monoamina» (engl. monoamine-deficiency hypothesis) jedno je od prvih objašnjenja u kojem su simptomi depresije povezani s redukcijom u neurotransmisiji monoamina, posebno serotonina (5-HT) i noradrenalina, a što je potvrđeno i neurokemijskim testovima kao i uspješnim tretmanom oboljelih sa supstancijama koje povećavaju monoaminergičku neurotransmisiju (*Expert Opin. Investig. Drugs* 2003, 12, 531-543). Uz serotonergički i noradrenergički, vrlo važnu ulogu u poremećajima funkcije CNS-a igra i dopaminergički sustav. Razumijevanje točne uloge i međudodosa ovih neurotransmiterskih sustava otežava brojnost subtipova receptora i njihova farmakološka kompleksnost. Uočeno je, na primjer, da dopaminergičku neurotransmisiju reguliraju 5-HT<sub>2A</sub> receptori (L.G. Spampinato, *J. Neurochem.* 2000, 74, 693-701) te stoga 5-HT<sub>2A</sub> receptori mogu biti i ciljni receptori u tretiranju bolesti i poremećaja u čijoj patologiji važnu ulogu ima poremećaj funkcije dopaminergičkog sustava (psihoze i različite ovisnosti).

U tretmanu patoloških poremećaja CNS-a najčešće se koriste farmakološki pripravci, a među njima značajno mjesto kao najčešće primjenjivani lijekovi u terapiji mentalnih poremećaja zauzimaju supstancije koje su po svojoj strukturi policiklički spojevi (benzodiazepini, triciklički i tetraciklički antidepresivi, inhibitori monoaminoksidaze (MAO inhibitori), selektivni inhibitori reapsorbcije serotonina itd.).

Novo područje u farmakoterapiji otvoreno je uvođenjem novog tetracikličkog antidepresiva mianserina (Claghorn, J.; Lesem, M.D. *Prog. Drug Res.* 1996, 46, 243-262; Sperling, W.; Demling, J. *Drugs Today* 1997, 33, 95-102). U literaturi su opisani brojni tetraciklički derivati koji pokazuju farmakološki učinak u tretmanu poremećaja neurokemijske ravnoteže u CNS-u. U WO patentnim prijavama br. 99/19317, 97/38991 te US 6,511,976 opisana je priprava tetracikličkih derivata koji sadrže tetrahidrofuranski prsten te njihova primjena kao supstancija s antipsihotičnim, kardiovaskularnim i gastrokinetičkim djelovanjem. Patentna prijava US 4,145,434 opisuje pripravu dibenzo(ciklohepta-, oksepino-, tiepino-)pirolidinskih i dibenzopirolidinoazepinskih derivata te njihovu primjenu kao supstancija sa potencijalnim CNS djelovanjem. Također je opisana priprava i potencijalno anksiolitičko djelovanje nekih tetracikličkih izooksazolidinskih derivata (*Drugs Fut.* 2002, 27, Suppl. A: C41; *Drugs Fut.* 2002, 27, Suppl.A: P182, WO 96/14320, WO 96/14321). Uvođenje piperidinskog prstena u tetracikličku strukturu koja sadrži oksepinski prsten rezultira nastajanjem molekule Org-4428 koja pokazuje antidepresivni učinak (Sperling, W.; Demling, J. *Drugs Today* 1997, 33, 95-102). Molekula Org-5222 sadrži pirolidinski prsten kondenziran na oksepinsku jezgru te je opisana kao potencijalni anksiolitik i antipsihotik (Sperling, W.; Demling, J. *Drugs Today* 1997, 33, 95-102). Poznati su također i neki derivati 1,3-diaza-dibenzo[e,h]azulena i njihove soli kao nova klasa spojeva s protuupalnim učinkom (US 3,711,489, US 4,198,421 i CA 967,573).

Derivati 1-tia-dibenzo[e,h]azulena s aminoalkiloksi supstituentima na tiofenskom prstenu koji pokazuju protuupalno djelovanje opisani su u patentnoj prijavi WO 01/87890.

Iz reda 1-tia-dibenzoazulena u literaturi su opisani derivati koji su na položaju 2 supstituirani metilom, metil-ketonom, nitro grupom ili derivatima karboksilne skupine (Cagniant PG, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 1976, 283:683-686) te derivati 1-tia-dibenzoazulena koji u položaju 2 imaju aminoalkiloksi supstituente (WO Pat. prijava Br. 01/87890 ) i njihovo protuupalno djelovanje.

Priprava 1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulena, njihovih farmaceutski prihvatljivih soli i solvata te njihov protuupalni učinak opisana je u patentnoj prijavi HR P20020452A.

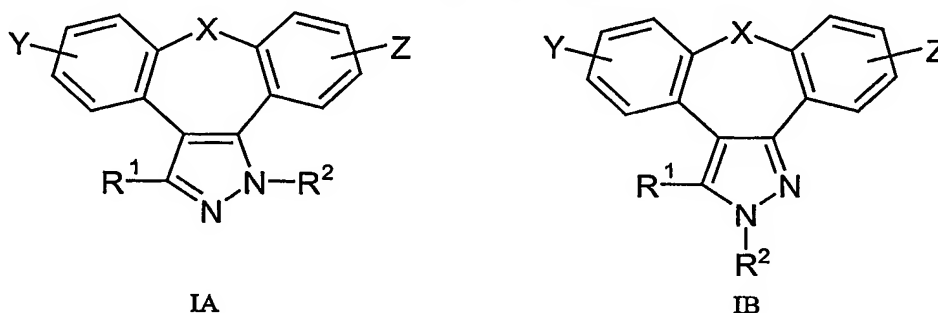
Također su poznati 2-supstituirani dibenzoazuleni tetrahidro pirazolskog reda sa supstuentima kao što su: acil alkiloksikarbonil, fenil ili supstituirani fenili (Gansser C. et al., Ann. Pharm. 1984, 41:465-471; ili Olivera R. et al., *Tetrahedron Letters*, 2000, 41:4353-4356 4357-4360). Nadalje, poznati su primjeri dibenzoazepina pirazolskog reda koji su u položaju 2 supstituirani alkilom (Kawashiha K Takeda *Kenkyusho Ho* 1978, 37:6-11, Fishou d et al., *Tetrahedron* 1984, 40:5121-5133), fenilom ili supstituiranim fenilom (FR Pat. Br. 2,504,140, EP 0063525).

Iznenadujuće se pokazalo da su spojevi iz klase 1,2-diaza-dibenzo[*e,h*]azulena supstituiranih aminoalkileterskim lancem učinkoviti u tretiranju bolesti i poremećaja CNS-a. Spojevi iz ovog izuma, za razliku od već poznatih tetracikličkih spojeva s učinkom na CNS, sastoje se od nezasićenog tetracikličkog sustava jer kao četvrti prsten sadrže pirazolski prsten.

Prema našim saznanjima do sada u stanju tehnike nije opisana niti sugerirana upotreba 1,2-diaza-dibenzo[*e,h*]azulena, njihovih farmaceutski prihvatljivih soli i solvata za proizvodnju farmaceutskog pripravka za tretiranje i prevenciju bolesti, oštećenja i poremećaja središnjeg živčanog sustava nastalih usljed poremećaja neurokemijske ravnoteže.

### Rješenje tehničkog problema

Ovaj izum odnosi se na upotrebu spojeva iz klase 1,2-diaza-dibenzo[*e,h*]azulena opće formule I

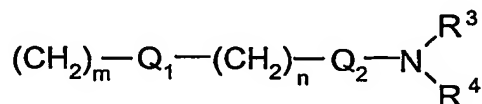


gdje

X ima značenje  $\text{CH}_2$ , ili heteroatoma selektiranog iz skupine O, S,  $\text{S}(=\text{O})$ ,  $\text{S}(=\text{O})_2$ , ili  $\text{NR}^a$  gdje je  $\text{R}^a$  vodik ili zaštitna skupina kao što je  $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$  alkil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_3$  alkanol,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$  alkiloksikarbonil,  $\text{C}_7$ - $\text{C}_{10}$  arilalkiloksikarbonil,  $\text{C}_6$ - $\text{C}_{10}$  aroil,  $\text{C}_7$ - $\text{C}_{10}$  arilalkil,  $\text{C}_3$ - $\text{C}_7$  alkilsilil,  $\text{C}_5$ - $\text{C}_{10}$  alkilsililalkiloksialkil;

Y i Z neovisno jedan o drugom označavaju jedan ili više istovjetnih ili različitih supstuentata vezanih na bilo koji raspoloživi ugljikov atom, a koji mogu biti halogen,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$ -alkenil,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$ -alkinil, halo- $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil, hidroksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkoksi, trifluorometoksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkanol, amino, amino- $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil,  $N$ -( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil)amino,  $N,N$ -di( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil)amino, tior,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkiltior, sulfonil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkilsulfonil, sulfinil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkilsulfinil, karboksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkoksikarbonil, cijano, nitro;

$\text{R}^1$  može biti halogen, po potrebi supstituiran heteroaril ili heterocikl, hidroksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkoksi, ariloksi, amino,  $N$ -( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)amino,  $N,N$ -di( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)amino,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkilamino, amino- $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkoksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkanol, aroil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkanoloksi, karboksi, po potrebi supstituiran  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkiloksikarbonil ili ariloksikarbonil, karbamoil,  $N$ -( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)karbamoil,  $N,N$ -di( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)karbamoil, cijano, nitro ili supstuent prikazan formulom II:



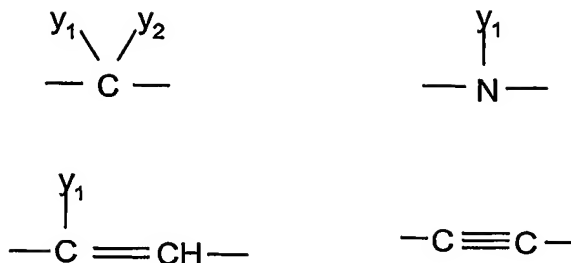
II

gdje

$\text{R}^3$  i  $\text{R}^4$  istovremeno ili neovisno jedan o drugom mogu biti vodik,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil, aril ili zajedno s N imaju značenje po potrebi supstituiranog heterocikla ili heteroarila;

m i n imaju značenje cijelog broja od 0 do 3

$\text{Q}_1$  i  $\text{Q}_2$  neovisno jedan o drugom imaju značenje kisika, sumпора ili skupine:



gdje supstituenti

$y_1$  i  $y_2$  neovisno jedan o drugom mogu biti vodik, halogen, po potrebi supstituiran  $C_1$ - $C_4$ -alkil ili aril, hidroksi,  $C_1$ - $C_4$ -alkoksi,  $C_1$ - $C_4$ -alkanoil, tiol,  $C_1$ - $C_4$ -alkiltio, sulfonil,  $C_1$ - $C_4$ -alkilsulfonil, sulfinil,  $C_1$ - $C_4$ -alkilsulfinil, cijano, nitro, ili zajedno čine karbonilnu ili imino skupinu;

$R^2$  ima značenje vodika, po potrebi supstituiranog  $C_1$ - $C_7$ -alkila ili arila ili zaštitne skupine: formil,  $C_1$ - $C_7$ -alkanoil  $C_1$ - $C_7$ -alkoksikarbonil arilalkiloksikarbonil, aroil, arilalkil,  $C_1$ - $C_7$ -alkilsilil;

njihovih farmaceutski prihvatljivih soli i solvata za proizvodnju farmaceutskih pripravaka za tretiranje i prevenciju bolesti, oštećenja i poremećaja središnjeg živčanog sustava uzrokovanih poremećajem neurokemijske ravnoteže biogenih amina. Spojevi iz ovog izuma posebno su učinkoviti kod tretiranja onih bolesti i poremećaja kod kojih je došlo do narušavanja neurokemijske ravnoteže biogenih amina kao što su serotonin, norepinefrin i dopamin, a koja mogu biti uzrokovana neuravnoteženom (prevelikom ili premalom) sintezom, nepravilnostima pri uskladištavanju, oslobađanju, metaboliziranju i/ili reapsorpciji određenog neurotransmitera.

Pokazalo se da spojevi koji su predmet ovog izuma pokazuju značajan afinitet za vezivanje na serotoninske receptore, posebno za 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>2C</sub>. Preferirano spojevi iz ovog izuma pokazuju afinitet za vezivanje na 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>2C</sub> serotoninske receptore u koncentracij  $IC_{50} < 1 \mu M$ . Kako su serotoninski receptori ključni u patofiziologiji niza poremećaja CNS-a (direktno ili indirektno tako da sudjeluju u aktiviranju nekog drugog neurotransmitera npr. dopamina ili/i receptora), spojevi iz ovog izuma mogu se koristiti za proizvodnju farmaceutskih pripravaka za tretiranje i prevenciju bolesti, oštećenja i poremećaja u kojima biogeni amini i njihovi receptori igraju važnu ulogu.

Općenito, spojevi iz ovog izuma mogu se koristiti za proizvodnju farmaceutskih pripravaka koji se koriste kao antidepresivi, anksiolitici, antipsihotici ili kao lijekovi za migrenu.

Nadalje, spojevi iz ovog izuma mogu se primjeniti za proizvodnju farmaceutskih pripravaka za tretiranje i prevenciju bolesti i poremećaja koji su posljedica poremećaja neurokemijske ravnoteže u središnjem živčanom sustavu kao što su npr. depresija i umjerena depresija, anksioznost, bipolarni poremećaji, poremećaji spavanja, seksualni poremećaji, psihoze, granične psihoze, šizofrenija, migrena, poremećaji osobnosti i opsesivno-kompulsivni poremećaji, socijalne fobije ili napadi panike, organsko mentalni poremećaji u djece, agresija, poremećaji pamćenja i poremećaj osobnosti u starijih ljudi, ovisnost, pretilost, bulimija i slični poremećaji, hrkanje, predmenstrualne tegobe.

Isto tako, ovi spojevi mogu se koristiti u tretmanu ili/i prevenciji oštećenja CNS-a uzrokovanog traumom, moždanim udarom, neurodegenerativnim bolestima, kardiovaskularnim poremećajima kao što su visoki krvni tlak, tromboza, infarkt i slične bolesti te u gastrointestinalnim poremećajima.

Efektivna doza aktivnog spoja koji je predmet ovog izuma, njegove farmaceutski prihvatljive soli ili solvata ovisi o efikasnosti spoja opće formule I, prirodi i ozbiljnosti bolesti i poremećaja CNS-a te težini pacijenta koji se tretira, a može biti od 0,001-10 mg/kg tjelesne mase. U svakom slučaju, jedinična doza za odraslu osobu prosječne mase 70 kg podrazumijeva 0,07-1000 mg spoja opće formule I ili njegove farmaceutski prihvatljive soli ili solvata. Jedinična doza se može primijeniti jednom ili više puta na dan, na primjer 2, 3 ili 4 puta na dan, najčešće 1 do 3 puta na dan.

Ovaj se izum više specifično odnosi na efektivnu dozu spojeva koji se vežu na serotoninske, sigma, adrenergičke, dopaminske ili muskarinske receptore ili/i djeluju kao inhibitori reapsorpcije jednog ili više biogenih amina (serotonina, dopamina, norepinefrina).

Farmaceutski prihvatljive soli odnose se na soli bromidne, kloridne, perkloratne, sumporne, maleinske, fumarne, vinske, limunske, benzojeve, bademove, metansulfonske, benzensulfonske, oksalne, p-toluensulfonske, 2-naftalensulfonske, fosfatne kiseline. Farmaceutski solvati odnose se na hidrate, etanolate i sl.

Nadalje, ovaj izum odnosi se na farmaceutski pripravak koji sadrži efektivnu netoksičnu dozu spojeva koji su predmet ovog izuma kao i farmaceutski prihvatljive nosioce ili otapala.

Farmaceutski pripravci dobiju se miješanjem terapijski djelotvorne količine određene supstancije, kao aktivnog sastojka, sa farmaceutski prihvatljivim nosačem koji može imati različite oblike ovisno o željenom načinu primjene. Ovi farmaceutski pripravci posebno se odnose za oralni, sublingvalni, rektalni, perkutani ili parenteralni način primjene.

5 Farmaceutski pripravci mogu se izraditi koristeći konvencionalna farmaceutska pomoćna sredstva i načine pripreme. Oblici za oralnu primjenu mogu biti sirupi, kapsule, tablete i slični oblici gdje su uobičajeni čvrsti nosači inertne tvari kao npr. laktoza, škrob, glukoza, metil celuloza, magnezijev stearat, dikalcijev fosfat, manitol i slično, te uobičajena tekuća oralna pomoćna sredstva koja uključuju etanol, glicerol, vodu i sl. Sva pomoćna sredstva po potrebi mogu se miješati s dezintegratorima, razrjeđivačima, granulirajućim sredstvima, ovlaživačima, vezivnim tvarima i sl. koristeći

10 uobičajene metode. Parenteralni oblici mogu se izraditi koristeći vodu ili neki drugi sterilni nosač. Kada se za izradu oralnih pripravaka koristi neki od uobičajenih tekućih nosača npr. voda, glikol, ulja, alkoholi i sl, preparat može biti u formi sirupa, emulzije, mekih želatinoznih kapsula ili sterilnih injektabilnih tekućina npr. ampula, ili nevodnih tekućih suspenzija. Kada se za izradu oralnih pripravaka koristi kruti nosač kao npr. škrob, šećer, kaolin, ovlaživači, vezujuća sredstva, dezintegrirajuća sredstva i sl. preparat može biti u formi praška, kapsula, tableta, tvrdih želatinoznih kapsula ili

15 zrnaca koja se mogu davati u kapsulama, a količina krutog nosača može varirati (najčešće od 1mg do 1g). Radi njihove lagane primjene tablete i kapsule su najprikladniji oralni pripravci u čijoj pripremi je korišten kruti nosač. Za parenteralne pripravke nosač uglavnom podrazumijeva sterilnu vodu, iako i drugi sastojci mogu biti sadržani u cilju poboljšanja topljivosti. Za pripremu injektabilnih otopina koristi se otopina natrijeva klorida, otopina glukoze ili njihova smjesa. Injektabilne otopine mogu još sadržavati i komponentu za usporeno otpuštanje aktivne komponente. Prikladna

20 ulja koja se mogu koristiti u ovu svrhu su npr. ulje kikirikija, sezamovo ulje, pamučno ulje, kukuruzno ulje, sojino ulje, sintetski glicerolni esteri dugolančanih masnih kiselina ili smjesa nekih od navedenih ulja. Injektabilne suspenzije mogu biti pripravljene na način da je upotrijebljen odgovarajući tekući nosač pomiješan sa suspendirajućom tvari. U pripravcima prikladnim za perkutanu primjenu nosač podrazumijeva supstanciju koja poboljšava prodiranje aktivne supstancije ili/i odgovarajući ovlažujući agens koji mogu biti kombinirani s odgovarajućim aditivom bilo kojeg

25 podrijetla, pri čemu aditivi ne uzrokuju štetne efekte na koži. Navedeni aditivi mogu olakšati primjenu na koži ili/i mogu biti korišteni u izradi željenih pripravaka, a koji mogu biti primjenjeni na različite načine npr. transdermalno, u jednoj točki (spot-on) ili u obliku masti.

U cilju poboljšanja topljivosti ili/i stabilnosti predmetnih spojeva u farmakološkim pripravcima mogu se koristiti  $\alpha$ -,  $\beta$ - ili  $\gamma$ -ciklodekstrini ili njihovi derivati, posebno hidroksialkil supstituirani ciklodekstrini tj. 2-hidroksipropil- $\beta$ -ciklodekstrin. Kootapala, kao npr. alkoholi, također mogu poboljšati topljivost ili/i stabilnost predmetnih spojeva u različitim farmaceutskim pripravcima.

Učinak spojeva koji su predmet ovog izuma na neurokemijsku ravnotežu određen je *in vitro* ispitivanjima kao što su test vezivanja liganda obilježenog radionuklidom (engl. radioligand binding assay) za 5-HT<sub>2A</sub> (Bonhaus D.W. Br. J. Pharmacol. 1995, 115:622; Saucier C. J. Neurochem. 1997, 68:1998) i 5-HT<sub>2C</sub> receptore (Wolf W.A. J. Neurochem. 1997, 69:1449) te *in vivo* ispitivanjima u modelu vješanja o rep (engl. tail suspension test; Vogel H.G. i Vogel W.H. Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays, Springer 1997, 304), modelu prisilnog plivanja miševa (engl. forced swim test in mice; Porsolt R.D. et al. Arch. Int. Pharmacodyn. 1977, 229:327-336), meta-

35 klorofenilpiperazinskom testu (eng. m-CPP test) u štakora (Drug Dev. Res. 1989, 18:119-144), te apomorfina, triptamina, norepinefrinskog (engl. apomorfine, tryptamine, norepinephrine (ATN)) testu u štakora (Arch. Int. Pharmacodyn. 1977, 227:238-253).

#### *In vitro* metoda za određivanje afiniteta za vezanje na 5-HT<sub>2A</sub> i 5-HT<sub>2C</sub> receptore

Mala koncentracija radioliganda sa velikim afinitetom za vezanje na receptor inkubirana je sa uzorkom tkiva obogaćenog sa određenim receptorom (1-5 mg tkiva) u puferiranom mediju (0,2-5 mL). Rekombinantni humani HT<sub>2A</sub> i HT<sub>2C</sub> receptori eksprimirani su u CHO-K1 ili COS-7 stanicama, te su također korišteni za kompetitivno vezanje. Za vrijeme inkubacije radioligand se veže na receptor. Kada je postignuta ravnoteža vezanja razdvojeni su receptori na koji je vezan radioaktivni ligand od onih na koji se isti nije vezao te se izmjeri radioaktivnost kompleksa receptor/radioligand. Interakcija testiranih spojeva sa receptorima testirana je u eksperimentima kompetitivnog vezanja. U inkubacijsku smjesu koja sadržava pripravljeno tkivo obogaćeno odgovarajućim receptorima i radioligand dodane su različite koncentracije testiranih spojeva. Vezanje radioliganda inhibirano je testiranim spojevima proporcionalno afinitetu određenog spoja za receptor i koncentraciji spoja.

Radioligand korišten za određivanje vezanja na 5-HT<sub>2A</sub> receptor je [<sup>3</sup>H]-ketanserin, a korišteno tkivo je humani korteks ili rekombinantni 5-HT<sub>2A</sub> receptor eksprimiran u CHO-K1.

Radioligand korišten za određivanje vezanja na 5-HT<sub>2C</sub> receptor je [<sup>3</sup>H]-mesulergin, a korišteno tkivo je koroidni plexus ili rekombinantni 5-HT<sub>2C</sub> receptor eksprimiran u CHO-K1 stanicama.

Aktivnima se smatraju spojevi koji pokazuju  $IC_{50}$  u koncentracijama nižim od 1  $\mu M$ .

#### Model prisilnog plivanja miševa ("Forced swim test in mice")

- 5 Za eksperiment korišteni su mužjaci CD1 miševa mase 20-25 g. Na dan eksperimenta životinje su smještene u stakleni cilindar (visine 18,2 cm, promjer 13,3 cm) koji je napunjen do 10 cm visine vodom zagrijanom na 22°C. Nepokretljivost, definirana kao prestanak opiranja životinje i početak plutanja pri čemu su kretnje svedene na one koje su neophodne da životinja održi glavu iznad površine vode, počinje se bilježiti nakon dvije minute i potom prati tijekom 4 minute. Ispitivana supstancija aplicira se per os 30 minuta prije testa.

10 Postotak životinja koje pokazuju pasivno ponašanje izračuna se te uspoređi s kontrolnom skupinom koja je tretirana nosačem. Aktivnim se smatraju spojevi koji u dozi od 10 mg/kg reduciraju nepokretnost životinja za 30% i više u odnosu na kontrolnu skupinu.

#### 15 Model vješanja miševa o rep ("Tail suspension test in mice")

Za eksperiment korišteni su mužjaci Balb/cJ miševa mase 20-25 g. Miševi se vješaju o repove na visini od približno 90 cm i promatraju se tijekom 5 minuta. Depresivnim miševima definiraju se oni koji 1 minutu tijekom perioda promatranja izdrže potpuno nepokretno viseći. U životinja koje su tretirane supstancijom s antidepresivnim učinkom razdoblje nepokretnosti je skraćeno.

20 Postotak životinja koje pokazuju pasivno ponašanje izračuna se te uspoređi sa kontrolnom skupinom koja je tretirana nosačem. Aktivnima se smatraju spojevi koji u dozi od 10 mg/kg reduciraju nepokretnost životinja za 40% i više u odnosu na kontrolnu skupinu.

#### 25 Meta-klorofenilpiperazinski (m-CPP) model u štakora ("m-CPP test on rats")

Testirana supstancija aplicira se štakorima per os 1 sat prije testa, a m-CPP u dozi 1 mg/kg intravenozno 15 minuta prije testa. Na početku eksperimenta tretirane životinje podvrgnu se "Testu otvorenog polja u štakora" ("Open Field Test on Rats", *Drug Dev. Res.* 1989, 18, 119-144): aparatura se sastoji od otvorene kutije dimenzija 80 x 65 x 35 cm koja na jednoj stijenci ima otvor promjera 10 cm kojim je povezana s neosvjetljenim odjeljkom dimenzija 25 x 21 x 21 cm, a otvor je sa udaljenosti od 66 cm osvjetljen izvorom svjetlosti (infracrveni izvor ili Kleverlux<sup>®</sup>; 12V/20W); jedan sat nakon aplikacije testirane supstancije životinje se smještaju u tamni (neosvjetljeni) odjeljak tako da su im glave okrenute od osvjetljenog izlaza te se tijekom 10 minuta mjeri prelazak životinja iz tamnog u osvjetljeni odjeljak.

35 Kao aktivna doza supstancije definira se ona kod koje je efekt induciran s m-CPP reduciran za 40% i više.

#### Apomorfin, triptamin, norepinefrin (ATN) model u štakora

Na početku eksperimenta ( $t=0$ ) životinjama je intravenozno injektirano 1,25 mg/kg apomorfina, potom 40 mg/kg triptamina ( $t=60$  minuta) te 1,25 mg/kg norepinefrina ( $t=90$  minuta).

40 Tijekom 60 minuta (apomorphine test) promatra se stanje iznimne uzbuđenosti i uobičajeno ponašanje, zatim bilateralni (dvostrani) klonički grčevi stražnjih šapa (nogu) i opći tremor tijela u triptaminskom testu (period od 5 minuta promatranja) te smrtnost tijekom 120 minuta nakon injekcije u norepinefrin-skom testu.

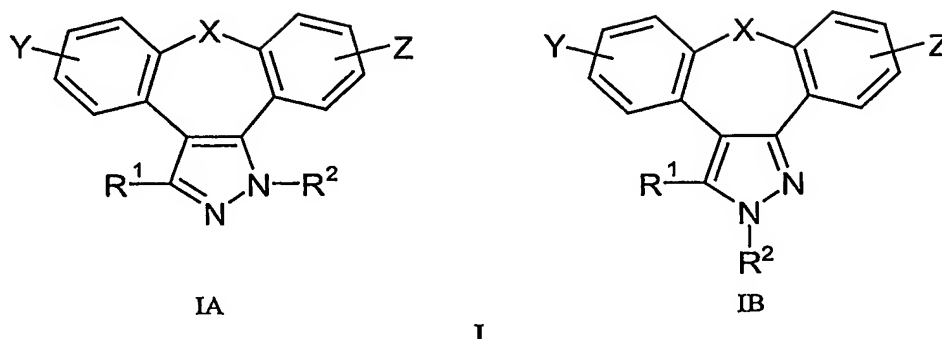
45 Postotak životinja koje pokazuju pasivno ponašanje izračuna se te uspoređi sa kontrolnom skupinom koja je tretirana nosačem.

50 U *in vivo* testiranjima aktivnim se smatraju oni spojevi koji kod doze od 10 mg/kg skraćuju vrijeme trajanja promatranih efekata (pokretljivost) u odnosu na kontrolnu grupu za 40%.

Neki od predmetnih spojeva testirani u prije navedenim modelima, pokazuju aktivnost u najmanje dva ispitivana testa iako ovi rezultati predstavljaju samo ilustraciju biološke aktivnosti spojeva, ali ni u čemu ne ograničavaju ovaj izum.

## PATENTNI ZAHTJEVI

## 1. Upotreba spojeva opće formule I

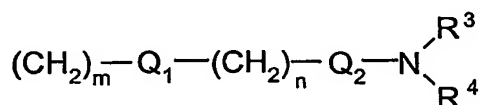


gdje

X ima značenje  $\text{CH}_2$ , ili heteroatoma selektiranog iz skupine O, S,  $\text{S}(=\text{O})$ ,  $\text{S}(=\text{O})_2$ ;

Y i Z neovisno jedan o drugom označavaju jedan ili više istovjetnih ili različitih supstituenata vezanih na bilo koji raspoloživi ugljikov atom, a koji mogu biti halogen,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$ -alkenil,  $\text{C}_2$ - $\text{C}_4$ -alkinil, halo- $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil, hidroksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkoksi, trifluorometoksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkanoil, amino, amino- $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil,  $N$ -( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil)amino,  $N,N$ -di( $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil)amino, tiol,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkiltio, sulfonil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkilsulfonil, sulfinil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkilsulfinil, karboksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkoksikarbonil, cijano, nitro;

$\text{R}^1$  može biti halogen, po potrebi supstituiran heteroaril ili heterocikl, hidroksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkoksi, ariloksi, amino,  $N$ -( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)amino,  $N,N$ -di( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)amino,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkilamino, amino- $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkoksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkanoil, aroil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkanoiloksi, karboksi, po potrebi supstituiran  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkiloksikarbonil ili ariloksikarbonil, karbamoil,  $N$ -( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)karbamoil,  $N,N$ -di( $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkil)karbamoil, cijano, nitro ili supstituent prikazan formulom II:



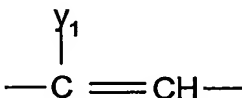
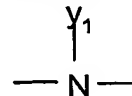
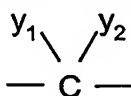
II

gdje

$\text{R}^3$  i  $\text{R}^4$  istovremeno ili neovisno jedan o drugom mogu biti vodik,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil, aril ili zajedno s N imaju značenje po potrebi supstituiranog heterocikla ili heteroarila;

m i n imaju značenje cijelog broja od 0 do 3

$\text{Q}_1$  i  $\text{Q}_2$  neovisno jedan o drugom imaju značenje kisika, sumpora ili skupine:



gdje supstituenti

$\text{Y}_1$  i  $\text{Y}_2$  neovisno jedan o drugom mogu biti vodik, halogen, po potrebi supstituiran  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkil ili aril, hidroksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkoksi,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkanoil, tiol,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkiltio, sulfonil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkilsulfonil, sulfinil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_4$ -alkilsulfinil, cijano, nitro, ili zajedno čine karbonilnu ili imino skupinu;

$\text{R}^2$  ima značenje vodika, po potrebi supstituiranog  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkila ili arila ili zaštitne skupine: formil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkanoil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkoksikarbonil, arilalkiloksikarbonil, aroil,  $\text{C}_7$ - $\text{C}_{10}$  arilalkil,  $\text{C}_1$ - $\text{C}_7$ -alkilsilil;

njihovih farmaceutski prihvatljivih soli i solvata, naznačena time da se koriste za proizvodnju farmaceutskih pripravaka za tretiranje i prevenciju bolesti, oštećenja i poremećaja središnjeg živčanog sustava uzrokovanih poremećajem neurokemijske ravnoteže biogenih amina.

2. Upotreba prema zahtjevu 1. naznačena time da su selektirani biogeni amini serotonin, norepinefrin i dopamin.

3. Upotreba prema zahtjevu 1. naznačena time da spojevi opće formule I djeluju na neurokemijsku ravnotežu regulirajući sintezu, uskladištavanje, oslobađanje, metaboliziranje ili/i reapsorpciju biogenih amina.
4. Upotreba prema zahtjevu 3. naznačena time da spojevi opće formule I pokazuju afinitet za vezivanje na receptor jednog ili više biogenih amina.
5. Upotreba prema zahtjevu 4. naznačena time da spojevi opće formule I pokazuju značajan afinitet za vezanje na serotonininske 5-HT<sub>2A</sub> i 5HT<sub>2C</sub> receptore.
6. Upotreba prema zahtjevu 5. naznačena time da spojevi opće formule I pokazuju afinitet vezivanja na selektirane serotonininske receptore u koncentraciji IC<sub>50</sub><1μM.
7. Upotreba prema zahtjevu 1. naznačena time da su bolesti i poremećaji središnjeg živčanog sustava selektirani iz skupine: anksioznosti, depresije i umjerene depresije, bipolarnih poremećaja, poremećaja spavanja, seksualnih poremećaja, psihoze, granične psihoze, šizofrenije, migrene, poremećaja osobnosti i opsesivno-kompulzivnih poremećaja, socijalne fobije ili napada panike, organsko mentalnih poremećaja u djece, agresije, poremećaja pamćenja i poremećaja stava u starijih ljudi, ovisnosti, pretilosti, bulimije i sličnih poremećaja, hrkanja, predmenstrualnih tegoba.
8. Upotreba prema zahtjevu 1. naznačena time da su oštećenja središnjeg živčanog sustava uzrokovana traumom, moždanim udarom, neurodegenerativnim bolestima, kardiovaskularnim poremećajima kao što su visoki krvni tlak, tromboza, infarkt i gastrointestinalnim poremećajima.
9. Upotreba prema zahtjevu 1. naznačena time da su spojevi opće formule I, njihove farmaceutski prihvatljive soli i solvati selektirani iz skupine:
  - 2-(8-Oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-1-il)-etanol;
  - 2-(8-Oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-2-il)-etanol;
  - 2-(8-Tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-1-il)-etanol;
  - 2-(8-Tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-2-il)-etanol;
  - (2-Fenetil-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-il)-metanol;
  - (2-Fenetil-2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-il)-metanol;
  - [2-(2-Trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-il]-metanol;
  - [2-(2-Trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-il]-metanol;
  - [11-Kloro-2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-il]-metanol;
  - Dimetil-{2-[2-(8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-1-il)-etoksi]-etil}-amin;
  - Dimetil-{3-[2-(8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-1-il)-etoksi]-propil}-amin;
  - Dimetil-{2-[2-(8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-2-il)-etoksi]-etil}-amin;
  - Dimetil-{3-[2-(8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-2-il)-etoksi]-propil}-amin;
  - Dimetil-[2-(2-fenetil-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-amin;
  - Dimetil-[3-(2-fenetil-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-amin;
  - Dimetil-[2-(2-fenetil-2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-amin;
  - Dimetil-[3-(2-fenetil-2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-amin;
  - Dimetil-[2-[2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi]-etil]-amin;
  - Dimetil-[2-(1H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-amin;
  - Dimetil-[2-(2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-amin;
  - Dimetil-[3-[2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi]-propil]-amin;
  - Dimetil-[3-(1H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-amin;
  - Dimetil-[3-(2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-amin;
  - Dimetil-[2-[2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi]-etil]-amin;
  - Dimetil-[2-(1H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-amin;
  - Dimetil-[2-(2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-amin;
  - Dimetil-[3-[2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi]-propil]-amin;
  - Dimetil-[3-(1H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-amin;
  - Dimetil-[3-(2H-8-tia-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-amin;
  - {2-[11-Kloro-2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi]-etil}-dimetil-amin;
  - [2-(11-Kloro-1H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-dimetil-amin;
  - [2-(11-Kloro-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-etil]-dimetil-amin;
  - {3-[11-Kloro-2-(2-trimetilsilil-etoksimetil)-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi]-propil}-dimetil-amin;
  - [3-(11-Kloro-1H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-dimetil-amin;
  - [3-(11-Kloro-2H-8-oksa-1,2-diaza-dibenzo[e,h]azulen-3-ilmetoksi)-propil]-dimetil-amin.



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**